

レファレンスセンター等関連会議-薬剤耐性菌

世話人
国立感染症研究所
薬剤耐性研究センター 第1室 鈴木里和

- 平成28年度 活動報告
 - 薬剤耐性菌研修（基本コース+応用コース）
 - 陽性コントロール等配布
- 平成29年度活動予定
 - 薬剤耐性菌研修
 - 試験解析結果の報告と集計（NESID）
 - 研修資料・陽性コントロール配布
- その他

平成28年度 研修内容

<基本コース>

- 薬剤耐性菌検査に必要な抗菌薬の種類
- 薬剤耐性菌検査総論（主にβ-ラクタマーゼについて）
- 食用動物の耐性菌モニタリング事業について
（農林水産省 動物医薬品検査所より）
- JANISについて
- *C. difficile*感染症
- 薬剤耐性菌のタイピング手法と解釈

実習：ディスクを用いたβ-ラクタマーゼスクリーニング、CarbaNP test、Etest

<応用コース>

- 次世代シーケンサーMiSeqを用いたゲノム解析
（感染研 病原体ゲノム解析研究センター）
- S1-PFGEによるプラスミドの分離とサンプル調整

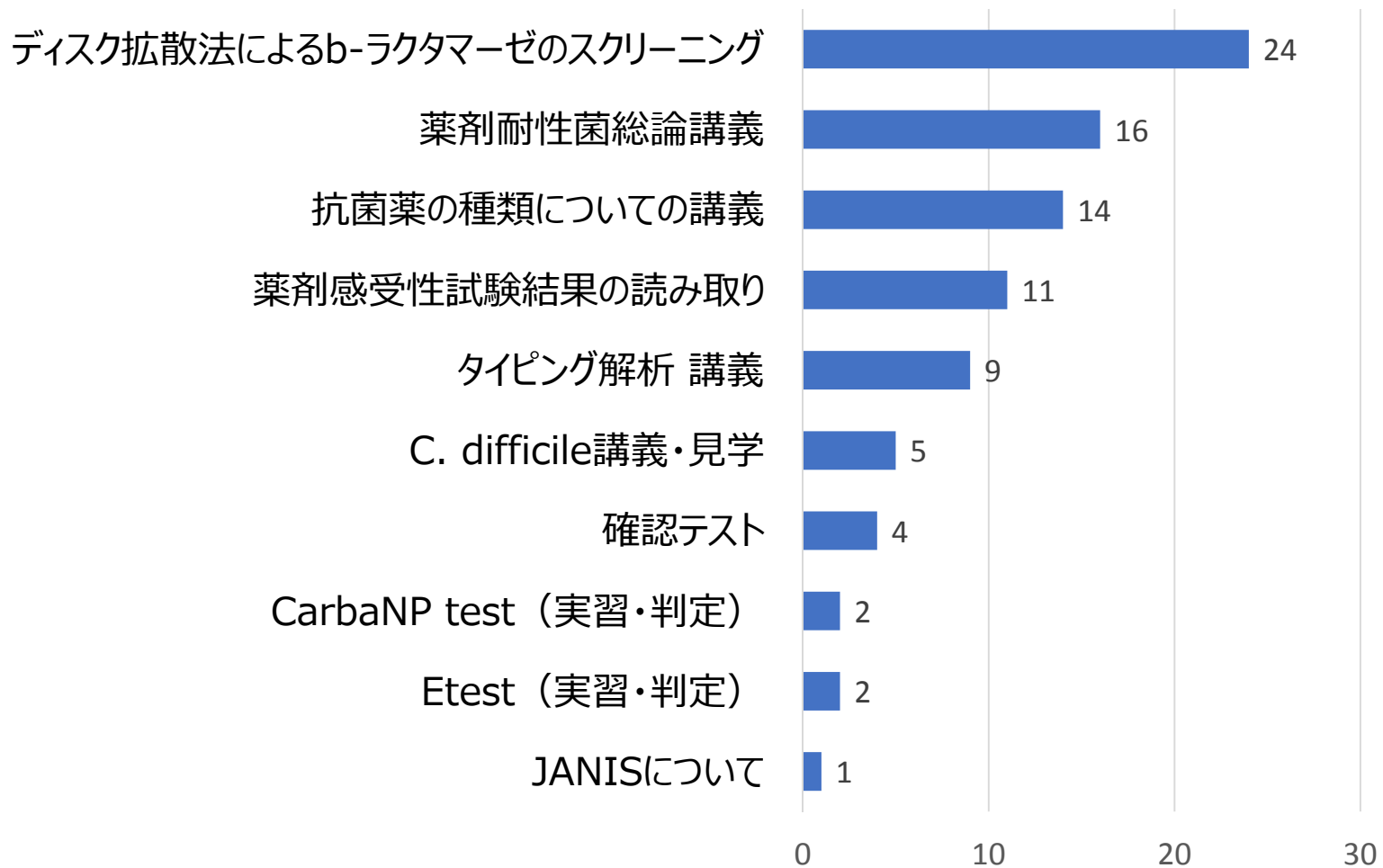
実習：S1 PFGE切り出し GPAT解析ファイルを用いた
プラスミド解析報告書作成

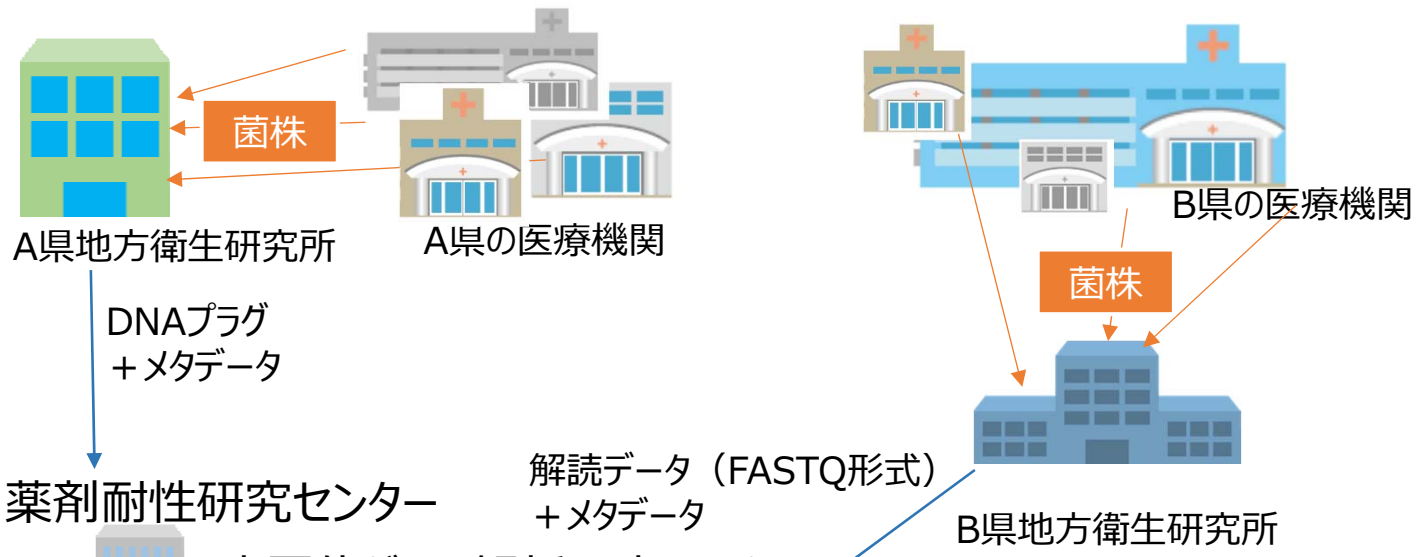
平成28年度 研修参加者数および陽性コントロール配布施設数

	H28 基本コース 参加者数	H28 応用コース 参加者数	陽性コントロール 配布施設数
北海道東北	3	5	9
関東甲信静	7	6	17
東海北陸	2	4	8
近畿	3	2	11
中国四国	5	6	10
九州	5	5	9
計	25	28	64

基本コース アンケート結果（回答数 N=27*）

有用と思われた研修内容（3項目まで）





応用コースの目的

GPAT解析フォルダを扱えるようになる

Global Plasmidome Analyzing Tool (GPAT)

Inter Plasmid Analyzing Tool (iPAT)

Automatic Microbial Genome Annotation (AMiGA)

Overview

網羅的耐性遺伝子の検出

Number of genes: 150
Detected Inc types: IncFIB(pB171), IncFIB(S), IncFI

Detected AR genes

Detected AR genes	Identity	Cov	Reference	Gene ID
blaA2	99	99	UJ0364967	141
blaNDM-5	100	100	JN1048627	148
blaTEM-1D	100	100	AF158300	130
blaAT2	100	100	AF571291	140
mphA	99	97	L83678	129
suII	100	100	A_554900	143
tet(B)	100	100	AF326772	61

(blastp hits against reffinder showing 98% identity and 99% coverage)

Pla-1888 ORF finding result

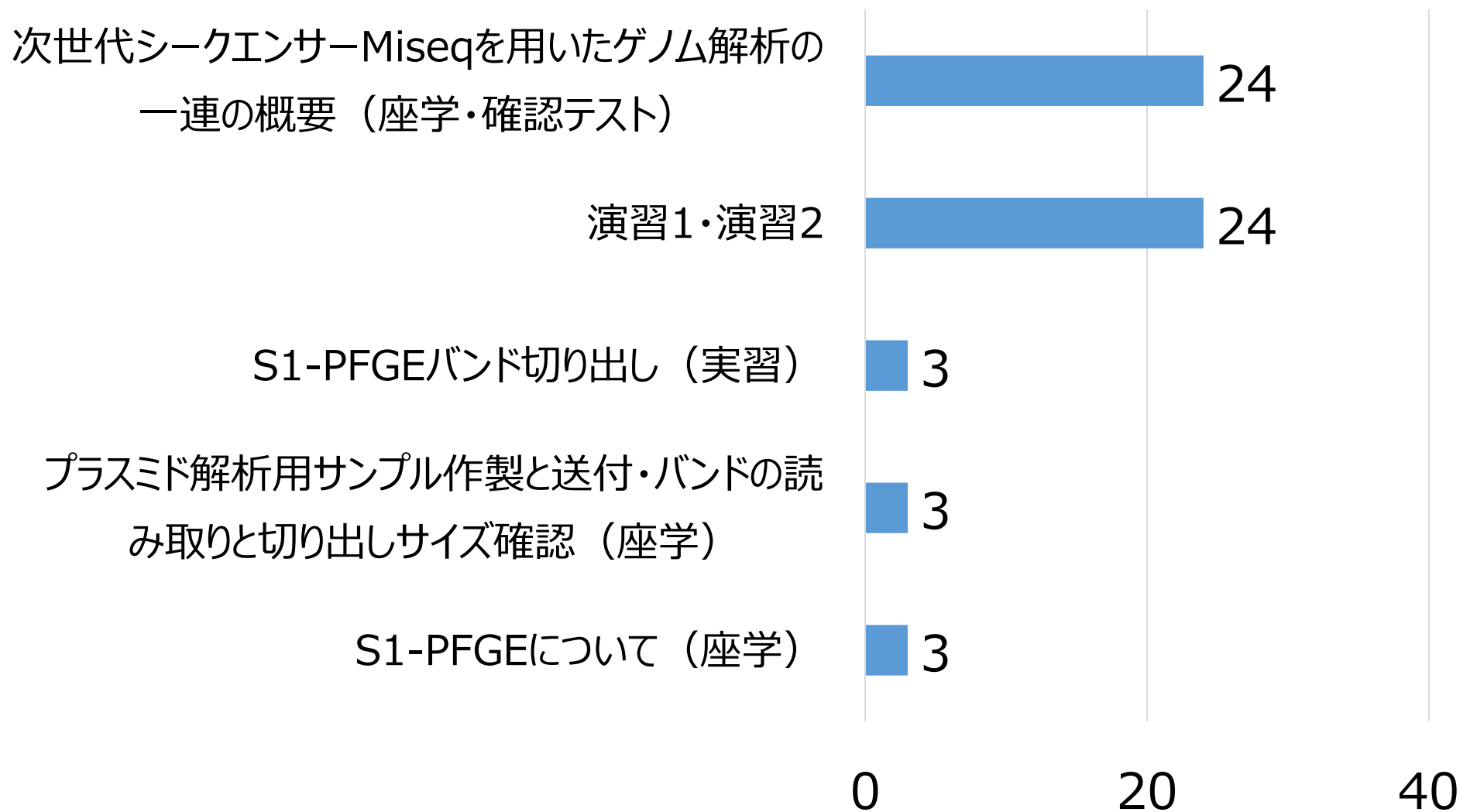
耐性遺伝子周辺構造解析

Pla-1888 BLAST result: assembly v.s. plasmid

プラスミド解析

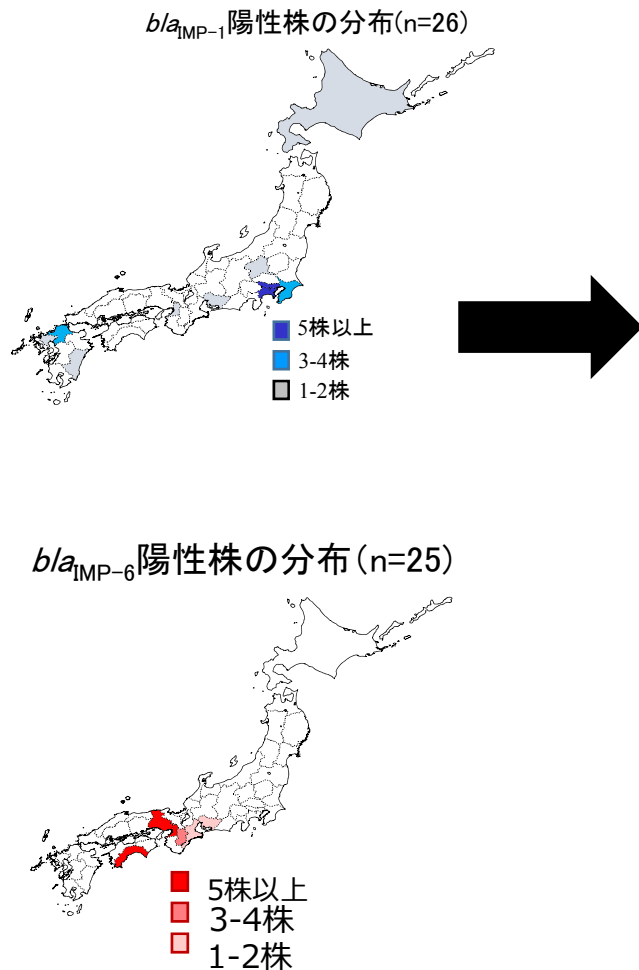
応用コース アンケート結果（回答数 N=29）

有用と思われた研修内容（2項目まで）

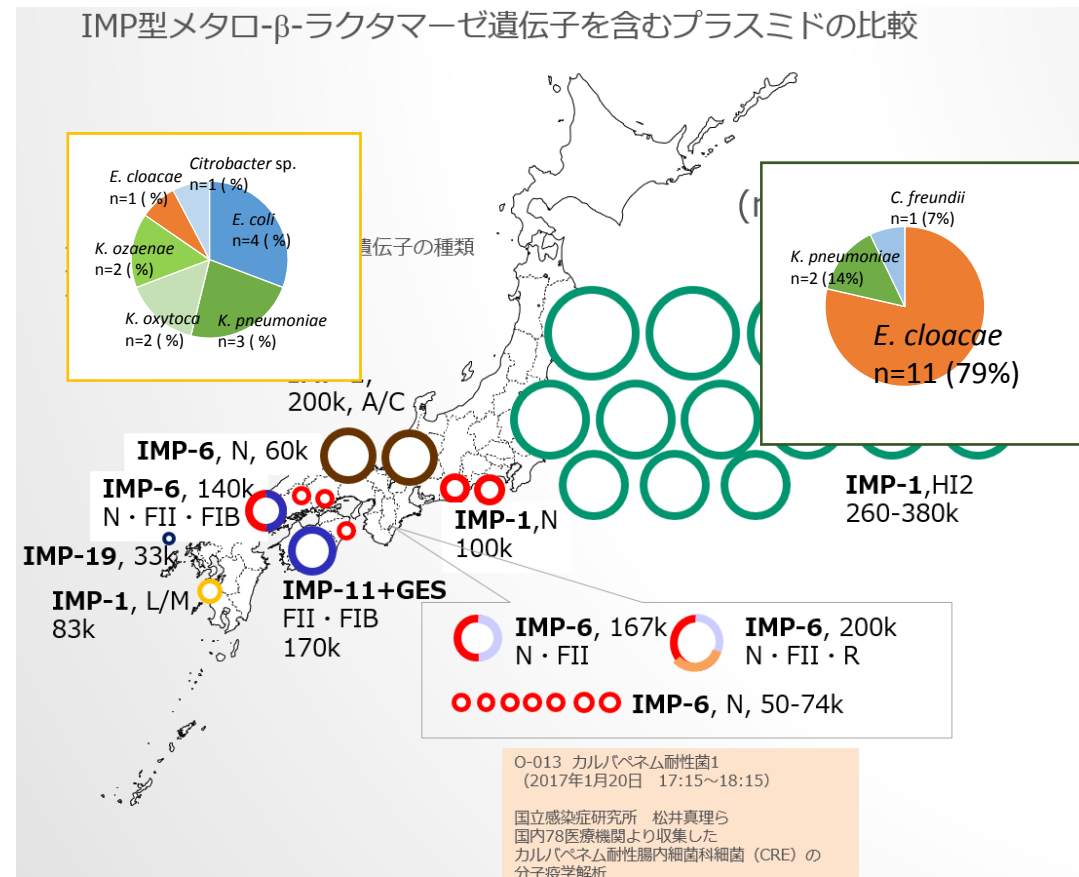


国内における薬剤耐性遺伝子の分布

- 国内にも耐性遺伝子の分布の偏りはある
- PCR+シーケンス解析のみ



- GenEpid-Jを用いた解析



研修へのご意見

- 感染研での継続的な研修の開催 **頑張ります！** **継続者用コース？**
- 各地域での研修（1施設から複数で受講したい）
- 少人数開催がよい。
- ゆっくり話してほしい（2名） **基本コースをⅠとⅡに分け
よりきめ細やかな対応を**
- 内容が多く初心者には高度すぎた。基本の基礎コースも。
- 薬剤耐性菌総論やDisk法の座学 **バンコマイシン耐性腸球菌
多剤耐性アシネトバクターも追加
耐性遺伝子の解説資料作成中**
- ほかの薬剤耐性菌、薬剤耐性遺伝子の解説
- PFGEやMLSTの実習 **タイピングコース？**
- (応用コース)GPATの詳しい使い方の解説時間が必要 **応用コース 資料内容改訂中**



平成29年度 薬剤耐性菌研修

*研修場所 村山庁舎

NEW! ①基本コースI	②基本コースII	③応用コース
2.5日 9月26日 (火) 9:00~ 9月28日 (木) ~12:30	2.0日 9月12日 (火) 13:00~ 9月14日 (木) ~12:30	1.0日 9月14日 (木) 13:30~ 9月15日 (金) ~12:30



耐性菌の検査はまったく初めて
周りに経験者もいない・・・
これから体制を整備する。

すでに耐性菌の検査は実
施しているが、研修に参
加したことはない。



GPATを活用し
学会・論文発表した
い。

研修内容	場所及び担当者
9月26日（火）	
抗菌薬総論 （座学）	講義室 鈴木(里)
10 バイオセーフティ （座学）	講義室 棚林先生
11 薬剤耐性菌検査 総論 （座学）	講義室 松井
12	昼食休憩
13 実習概要説明	実習室 松井
14	実習室
15 CRE検査（実習） Disk法とCIM 基本編	
16	
講義室へ移動・休憩	
17 タイピング解析 （座学）	講義室 鈴木（里）
18	

研修内容	場所及び担当者
9月27日（水）	
確認テスト	講義室
薬剤耐性菌検査 （実習） CarbaNPテスト Disk法 判定	実習室
結果整理 報告書作成	講義室
昼食休憩	
JANIS（座学）	講義室
<u>VRE、MDRA について</u> <u>（座学）</u>	講義室
VREとMDRAの 検査法 （見学）	実習室
CRE検査（実習） Disk法とCIM 応用編	

懇親会

研修内容	担当者
9月28日（木）	
CRE検査（実習） 結果判定	実習室
報告書作成 →報告書提出	講義室
結果解説	講義室 松井
NESIDへの 結果入力法	講義室 松井

基本コース I

- 実習内容は基本コース II と同じ、時間をかける。
- 基本編で典型例を、応用編で実際に見ることの多い例を

記

- 1 法第12条第1項の規定に基づき、医師から「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症等に係る試験検査の実施について」を報告する。 健感発 0328 第4号
平成29年3月28日 頁第八
該患者
- 2 各 { 都道府県
保健所設置市
特別区 } 衛生主管部（局）長 殿)検査
- 3 のすに供 SID)
に報告
査結果
情報提

厚生労働省健康局結核感染症課長
(公印省略)
- 4 は努や る場合
収集に
は、速

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症等に係る
試験検査の実施について
- 5 本件に係る試験検査の実施については、感染症発生動向調査事業の負担金の対象となる。

F	G	H
菌株番号	菌種	NESID用テキスト
1704-001	<i>Escherichia coli</i>	IMP6;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA*;VIM-;GES+;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM+
1794-005	<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP-;NDM1;KPC?;OX48-;MB+;BA-
1794-006	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES24;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM+
17-001	<i>Enterobacter asburiae</i>	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES*;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-

Escherichia coli
Klebsiella pneumoniae
Klebsiella oxytoca
Enterobacter cloacae
Enterobacter aerogenes
Enterobacter asburiae
Citrobacter freundii
Citrobacter koseri

大阪健康安全基盤研究所
河原先生作成
入力支援ツール



菌名をプルダウンで選択

H	I	J	K	L	M	N	O	P
NESID用テキスト	IMP型	IMP 遺伝子 型	NDM 型	NDM 遺伝子 型	KPC型	OXA-48型	MBL阻害 試験	ポロン 阻害試
IMP6;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA*;VIM-;GES+;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM+	+	6	-	-	-	-	+	*
IMP-;NDM1;KPC?;OX48-;MB+;BA-	-		+	1	?	*	+	-
IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES24;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM+	-		-	-	-	-	-	-
IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES*;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-		-	-	-	-	-	-
IMP+;NDM-;KPC-;OX48+;MB-;BA-	+		-	-	-	+	-	-

+
-
*
?

試験結果を選択すると、入力フォーマットに
準じた形式で表示⇒NESIDにコピペ

結果3 特記すべき生化学的性状等

IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-
 IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-
 IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-
 IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-
 IMP1;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA-
 IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM*
 IMP+;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA-

IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM*;GES*;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM*

プログラムで項目ごとに集計

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
IMP-;NDM- カルバペニム	検出病原体その他内容	Format	特記すべき生化学的性状等	IMP	NDM	KPC	OXA-48	MB	BA	VIM	GES	IMI
IMP-;NDM	Escherichia coli	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
IMP-1/2、	Enterobacter aerogenes	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM*;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
IMP1;NDM	Enterobacter aerogenes	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IMP-;NDM	Enterobacter aerogenes	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
IMP-;NDM	Enterobacter cloacae	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	+	-	-	-	+	-	-	-	*
IMP-;NDM	Enterobacter aerogenes	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
IMP, NDM	Serratia marcescens	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
IMP-;NDM	Escherichia coli	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
IMP-;NDM	Enterobacter cloacae	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
IMP-;NDM	Serratia marcescens su	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
IMP-;NDM	Serratia marcescens su	1	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

IMP, NDM₁, VIM₁, KPC, OXA-48は遺伝子・プラス、Serratia marcescensは菌株のIMP₁, IMI₁ / 2、
 IMP-1/2, VIM-2, NDM-1, KPC, OXA-48は陰性

IMP型	-	+ (遺伝子型)	総計
<i>Enterobacter aerogenes</i>	8	0	8
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	2 (IMP-1)	4
<i>Escherichia coli</i>	3	2	5
<i>Serratia marcescens</i>	3	1	4
総計	16	5	21

試行にご協力いただいた皆さま
 ありがとうございました。

NESID 報告方法について

- 7月頃～

レファレンスセンターを通じて、全衛研にマニュアル（CRE版）および入力支援ツールを配布

- VRE、MDRAについても段階的に整備
- 入力に関する問い合わせ等への対応
- 入力内容に関する確認手順の整備（データの精度管理）

- 12月頃、第一回の集計試行

- 報告株数および集計結果を検討し、IASR等での公表を検討

目標：来年の衛生微生物協議会では分離菌株のデータを発表する

研修資料・陽性コントロール配布 その他

- 研修用資料は10月以降クラウドにアップロード予定
- 陽性コントロールDNAは10月以降に希望施設に一斉送付予定
- 菌株分与は個別対応⇒taiseikin@niid.go.jpまで
 - 陽性コントロール菌株として現在分与可能な株
 - IMP型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌 (IMP-1、IMP-6)
 - ESBL産生菌 (CTX-M型、TEM-26,SHV-12)
 - プラスミド性AmpC産生菌 (CMY-2)
- 薬剤耐性菌検出マニュアル更新時はレファレンスセンターを通じて情報共有